

В ходе проведения данной работы были исследованы здоровая аорта и пораженная артерия брюшной полости человека тремя различными способами: регистрация интенсивности рассеянного излучения на здоровых и пораженных участках стенок сосудов, исследование спектра их пропускания и изучение оптической активности данных образцов. В качестве примера указаны данные по регистрации интенсивности рассеянного излучения.

По полученным результатам можно сделать вывод о том, что на оптические свойства исследуемых кровеносных сосудов отразился их различный структурный состав. Т.е. при воздействии на них излучения, в каждом конкретном эксперименте образцы вели себя по-разному и демонстрировали несколько отличные друг от друга свойства. Данные результаты, которые можно использовать в диагностике и исследовании пораженной атеросклерозом область артерии.

### **Литература**

1. Reducing Risks, Promoting Healthy Life. TheWorldHealthReport 2002

### **ИСПОЛЬЗОВАНИЕ FRET-ЭФФЕКТА В ОФТАЛЬМОЛОГИИ \***

*Г.В. Чащин<sup>1</sup>, В.О. Пономарев<sup>1</sup>, О.П. Пономарев<sup>2</sup>*

<sup>1</sup> Екатеринбург, МНТК имени академика С.Н. Федорова, [ponomarevsmolmed@mail.ru](mailto:ponomarevsmolmed@mail.ru);

<sup>2</sup> Екатеринбург, ФГАОУ ВПО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина», [post.sender1965@gmail.com](mailto:post.sender1965@gmail.com))

### **USING FRET-EFFECT IN OPHTHALMOLOGY**

*G.V. Chashchin, V.O. Ponomarev, O.P. Ponomarev*

Высококочувствительные биомаркеры, разработанные на основе квантовых точек (КТ) представляют альтернативу широко известным органическим красителям для диагностики заболеваний глаз. В офтальмологии КТ используются не только для визуализации тканей в полости глаза. Например, известен пептид со свойствами трансдукции белка для доставки лекарственных препаратов к тканям глаза, включая сетчатку и роговицу, который, соединяясь с КТ, существенно легче проникает через клеточные мембраны и повышает эффективность действия этих препаратов.

Квантовые точки – наноразмерные кристаллы сферической, эллиптической формы размерами, как правило, единицы – десятки нанометров, при попадании на которые фотонов света, в них может возникать плазмонный резонанс за счет возбуждения поверхностных плазмон-поляритонов (Surface Plasmon - Polariton – SPP). Возникновение SPP связано с взаимодействием электромагнитного излучения с плазмой свободных электронов в кристаллической структуре металлической (полупроводниковой) КТ.

FRET-эффект – Forster Resonance Energy Transfer (Фёрстеровский безызлучательный перенос энергии) связан с энергетическим обменом между КТ и биомолекулами. Квантово-механическое описание взаимодействия структурных элементов, например донора (КТ) и акцептора (биомолекулы) при FRET основано на матрице моментов – операторной формы положения электронов донора (D) и акцептора (A); механизмах внутренней конверсии (интеркомбинационной конверсии) атома, колебательной релаксации [1]; теории спин-спинового взаимодействия электронов пары взаимодействующих атомов (Гайтлера-Лондона) при их триплетном или синглетном состоянии [2].

К сопутствующим физическим явлениям при FRET - взаимодействи D-A пары можно отнести: статическое и динамическое перераспределение зарядов, возникающее между

---

\* Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, проект № 12-07-12080.

электронными состояниями в КТ, биомолекуле и окружающей среде [3]; прекращение FRET при изменении концентрации КТ по отношению к биомолекулам из-за нарушения работы «протонного насоса» реакционных центров фотосинтеза, например, бактериородопсина [4]; разделение зарядов в реакционных центрах взаимодействия КТ и биомолекул, электростатическое взаимодействие КТ и биомолекул, конденсация КТ на поверхности белковой молекулы или тушение флуоресценции при взаимодействии КТ с белком [5]; плазмон-поляритонные волны и колебания в КТ.

Представляет значительный интерес проявления FRET-эффекта между D-A парами при наложении внешнего электрического или магнитного полей. Наложение внешнего электрического поля приводит к перераспределению волновых функций D-A пары и появлению момента количества движения заряженных структурных компонентов. При наложении внешнего магнитного поля происходят более сложные явления. Изменяется прецессия локальных магнитных моментов, что приводит к изменению (замедлению) прецессии локальных магнитных моментов в D-A паре [2]. Вектор локальной намагниченности начинает вращаться и прецессировать неравномерно. Проявляются релаксационные квантовые биения, нутация вектора локальной намагниченности из-за отставания вектора намагниченности от вектора внешнего магнитного поля. В результате магнитный момент D (A) приобретает некоторые преимущественные направления. В доноре (КТ) и акцепторе появляется градиент магнитного поля молекулярных масштабов.

Для описания FRET-взаимодействия приняты следующие модели: диполь-дипольного взаимодействия, основанного на флуктуационно-диссипационной теореме [6]; модель нанопереходного преобразования энергии; использования функции Грина тензора поляризуемости атомного состояния D-A пары. Эффективность FRET определяется степенью перекрытия спектров эмиссии D и поглощения A, а также сопряженной валентностью D-A пары (степенью перекрытия волновых функций D-A пары). Для ансамбля КТ или D-A пар, организованных в упорядоченные структуры, наблюдается улучшение или подавление FRET. В общем случае эффективность FRET определяется коэффициентами поглощения, эмиссии, диссипации энергии оптического диапазона D-A комплекса в целом. При этом плазмонные колебания увеличивают силу электронного взаимодействия между КТ (D) и фоточувствительными белковыми молекулами (A) через их реакционные центры.

Поверхность раздела внешняя оболочка КТ – окружающая среда в биологическом окружении представляет собой существенно нестационарную систему, обусловленную сложной структурой белково-углеводно-липидного комплекса мембран биомолекул и постоянно меняющейся из-за клеточной секреции и потоков тканевых жидкостей, химическим составом окружающей среды. В то же время не до конца выяснен вопрос о динамике и закономерностях проникновения КТ через клеточные мембраны во внутрь клетки, ядро и ядрышко. Известны эксперименты, когда некоторые КТ свободно проходят через поры клеточной мембраны, некоторые «ждут своей очереди», скапливаясь на мембране, некоторые не проходят и удерживаются на ее поверхности. Это, прежде всего, зависит от размеров, формы, а также химического состава ядра и оболочки КТ. Взаимодействуя с белками, КТ могут изменять их конформацию (третичную структуру). При встраивании КТ в биомембраны может претерпевать изменение показатель подвижности липидного бислоя. При этом цитотоксичность КТ обусловлена формированием реактивных свободнорадикальных форм кислорода вследствие окисления белков и пероксидации липидов [7]. Интересны результаты моделирования кинетики и динамики прохождения КТ через поры клетки, изложенные в работе [8]. Механизм импорта/экспорта КТ из/в клетку назван динамикой через «транспортёр».

Очевидно, что биомолекулы клеток сетчатки и КТ могут образовывать некие гибридные системы для увеличения эффективности светосбора палочками и колбочками, которые создаются на основе реакционных центров фотосинтеза. В то же время влияние процесса биосопряжения КТ и клеток на люминесцентные свойства КТ исследовано в офтальмологии недостаточно.

Авторами рассматривается теоретическая возможность и экспериментальное подтверждение создания биоконъюгатов на основе КТ, которые можно поместить на мембраны сохранившихся, на фоне какой-либо тяжелой патологии сетчатки, фоторецепторов. Можно предположить, что кванты света, пройдя через всю толщу сетчатки, возбуждают КТ, которые стимулируют в фоторецепторах каскад фотохимических реакций (преобразование энергии световой волны в нервный импульс). Затем импульс передается по цепи нейронов в кору головного мозга, вызывая определенные зрительные ассоциации. Доказательством эффективности введения КТ послужит усиление электрических ответов от сетчатки глаза. В патенте Дж. Олсона [9] описаны три способа размещения КТ внутри глаза: в стекловидном теле, т.е. витриально; субретиально, т.е. на сетчатке; интратретиально, т.е. между фоторецепторами пигментным эпителием. Можно предположить, что последний способ наиболее надежный, так как КТ могут подсаживаться на наружные сегменты фоторецепторов (палочек), тогда обеспечивается гарантированное фёрстеровское расстояние между D (КТ) и А (молекулами родопсина дисков наружного слоя палочек). При отслойке сетчатки появляется единственный доступ для инъекции коллоидного раствора с КТ в это пространство.

Очевидно, что при образовании гибридных нано-биокомплексов между КТ и фоторецепторами произойдут структурные изменения в конформации родопсина, в частности,  $\alpha$ -спиралей, цитоплазматических и внутридисковых доменов. Эти вопросы в настоящее время практически не исследованы.

Использование КТ в офтальмологии для лечения дегенерации сетчатки связано с решением следующих проблем:

- синтеза нетоксичных КТ заданного размерного ряда;
- введения и удержание КТ в заданном координатно-ограниченном пространстве;
- предотвращения проникновения КТ через мембраны клеток во внутриклеточное пространство, вызывающие апоптоз клеток, например, за счет покрытия КТ лигандами из карбоксильных или аминных групп;
- исследования кинетики накопления КТ, их токсичности методом нейронной активации (NAA), масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой (ICP-MS), атомно-адсорбционной спектроскопии (AAS);
- разработки методик выведения КТ из глаза.

### **Литература**

1. Климов В.В. Наноплазмоника. – 2-е изд., испр. – М.: ФИЗМАТЛИТ, 2010. – 480 с.
2. Дроздов А.В. и др. Квантово-механические аспекты эффектов слабых магнитных полей на биологические объекты // Биофизика, 2010, т. 55, вып. 4, с. 740-749.
3. Степанов А.Л. Оптические свойства металлических наночастиц, синтезированных в полимере методом ионной имплантации // ЖТФ, 2004, т. 74, вып. 2, с. 1-12.
4. Rakovich A. et al. resonance Energy Transfer Improves the Biological Function of Bacteriorhodopsin within a Hybrid Material Built from Purple Membranes and Semiconductor Quantum Dots // Nano Letters, 2010, No. 10, p.p. 2640-2648.
5. Максимов Е.Г. и др. Гибридные системы из квантовых точек и фоточувствительного белка фикоэритрина // Росс. нанотехнологии, т. 5, № 7-8, 2010, с. 107-112.
6. Govorov A.O. et al. Exciton-Plasmon Interaction and Hybrid Excitons in Semiconductor-Metal Nanoparticle Assemblies // Nano Letters, 2006, Vol. 6, No. 5, p.p. 984-994.
7. Проданчук Н.Г., Балан Г.М. Нанотоксикология: состояние и перспективы исследований // Современные проблемы токсикологии, № 3-4, 2009, с. 4-20.
8. Allen T.D. et al. The nuclear pore complex: mediator of translocation between nucleus and cytoplasm // J. Of Cell Science 1131651-1659 (2000).
9. Olson, Jeffrey. Method for stimulating retinal response using photoactive devices. WO/2008/106605).